Глава 9

Анализ и интерпретация результатов

Интерпретация результатов для некоторых экспериментов может заключаться в описании, а для других – в аналитическом сравнении различных видов полученного лечения или воздействия субстанции в двух различных группах или нескольких. Как выше отмечалось, эксперименты можно разделить на два вида – подтверждающие и исследующие. В *подтверждающих* экспериментах делается попытка ответить на заранее поставленные вопросы. В *исследующих* экспериментах описывается исходное состояние и формулируются гипотезы для дальнейшей проверки и построения модели [6].

Для *подтверждающих* экспериментов используются различные статистические тесты. Эти тесты основаны на гипотезе нулевого эффекта, то есть предполагается, что оказанное воздействие не дало никакого эффекта. Также предполагается естественное отличие тестовой и контрольной групп, но если было найдено отличие, которое нельзя считать естественным или случайным, считается, что их вызвало причиненное воздействие.

В *исследующих* экспериментах также используется статистика, но не в целях определения значимых отличий последствий воздействия. Статистические приемы в этих экспериментах скорее используются для математической оценки, описания результата воздействия на определенную популяцию или математического моделирования.

Таксономия

Исследующие эксперименты включают в себя выявление и выделение *таксономических* или *систематических категорий*, то есть понятий, применяемых в *таксономии* для обозначения соподчиненных групп объектов и обозначаемых как *таксоны*. Таксон (лат. *taxare* – оценивать) представляет группы дискретных объектов, имеющих высо-

кую степень общности свойств и признаков и используемых для построения системы таксономических категорий в предметной сфере реальности. Таксономические категории исключительно комфортабельны для описания реальностей с точки зрения их иерархического строения, например, иерархия биосистем, органического мира, систематики животных и, естественно, для осуществления экстраполяционных и прогностических построений [6, 20, 22].

Когда проводится исследование одного вида для оценки другого, встает вопрос о пределе и возможности экстраполяции данных. Достоверная экстраполяция зависит от вида, достаточно подобного в отношении исследования и знаний основ и влияний характерных отличий. Многие биологические параметры варьируют в зависимости от веса (W) и поверхности тела (S) между видами. Когда виды маленького размера используются в качестве моделей больших видов, влияние размера на норму физиологического, иммунологического и других процессов должны приниматься во внимание. Между видами и нормами физиологических процессов существует тенденция к повышению с $W^{0.75}$ и $S^{0.75}$ и тенденция распределения физиологических явлений к повышению с $W^{0.25}$ и $S^{0.25}$. Аллометрический масштаб дает возможность оценить многие аспекты биологии животных, процессы экстраполяции между видами, связанные с нормами метаболизма, а также имеющие этические аспекты применения.




Многие биологические параметры, включая анатомические, физиологические, токсикофармакологические и параметры жизни животных, варьируют, являясь функциями массы и поверхности тела в зависимости от вида. Эти примеры вариации могут быть описаны аллометрическими уравнениями [3, 6, 7, 19], и эти уравнения могут обеспечить логический подход к биологическим видам, для которых данные отсутствуют, например требования по ежедневной затрате энергии, необходимым дозам лекарств и любым иным параметрам.

NB! Если корреляция между показателями у одних животных высока, то оценка этих характеристик, полученных из аллометрических уравнений, уравнений Вальда, байесовых функций или марковских цепей может быть достаточной для снижения необходимой недостающей информации для экспериментального измерения по другим видам.

Например, Rivere et al. [21] считают, что такие подходы должны иметь важное значение для исключения новых видов животных в опытах по подбору доз при разработке некоторых лекарств. Метод Вальда позволяет при той же достоверности снизить число животных в эксперименте и число самих исследований, а также получить дополнительную информацию о взаимосвязи действующих факторов, например,

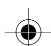
при оценке взаимодействия и взаимовлияния двух или нескольких лекарств или ксенобиотиков.

Последовательный анализ Вальда

Нами уже приводились соображения, показывающие, что число наблюдений можно сократить, если по ходу анализа учитывать уже сделанные наблюдения. Обобщением этой идеи служит разработанный Вальдом [2, 6] метод *последовательного анализа*. При этом методе после каждого нового наблюдения решают, принять гипотезу, отклонить или продолжать испытания. Последовательный анализ *позволяет сокращать* число необходимых наблюдений в среднем в два-три раза по сравнению с обычными методами, фиксирующими число наблюдений заранее.

Сейчас последовательный анализ – это уже обширная теория. Здесь мы рассмотрим его применение только к анализу генерального среднего *а* наблюдаемой случайной величины.

Допустим, что нам нужно сделать выбор между гипотезами $\alpha \le \alpha_1$ и $\alpha \ge \alpha_2$ (предполагается, что $\alpha_1 < \alpha_2$). Вероятность принять гипотезу $\alpha \ge \alpha_2$, когда в действительности $\alpha \le \alpha_1$, обозначим через α. Вероятность противоположной ошибки, то есть принятия гипотезы $\alpha \le \alpha_1$, когда в действительности $\alpha \ge \alpha_2$, обозначим через β. Числа α и β обычно малы и задаются заранее.




Основная идея последовательного анализа заключается в следующем. При каждой совокупности наблюдений $x_1, x_2, ..., x_n$ мы можем найти вероятность p'_n того, что эти наблюдения получены из совокупности с генеральным средним α_1, и вероятность p''_n того, что они получены из совокупности с генеральным средним a_z. Согласно принципу максимума правдоподобия на практике осуществляются события с максимальной вероятностью. Это значит, что при $p'_n > p''_n$ нужно считать более правдоподобным значение $\alpha = \alpha_1$ (а с ним и всю гипотезу $\alpha \le \alpha_1$). Если же $p''_n > p'_n$, то предпочтение нужно отдать второй гипотезе $\alpha \ge \alpha_2$. Итак, все решается *отношением правдоподобия*

$$p''_n = p'_n \cdot \qquad (9.1)$$

Существенно важно, будет ли оно больше или меньше единицы. Ясно, однако, что в случае, когда отношение правдоподобия лишь немного отличается от единицы, предпочтение соответствующей гипотезы будет весьма сомнительным, и лучше всего продолжить испытания. Точные показатели, насколько должно отношение правдоподобия отличаться от единицы, чтобы между гипотезами можно было

сделать уверенный выбор, определяются заданными вероятностями α и β. Вальд показал, что гипотезу $\alpha \le \alpha_1$ можно принять, если

$$\frac{p''_n}{p'_n} \le \frac{\beta}{1-\alpha'} , \tag{9.2}$$

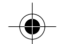
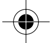
и гипотезу $\alpha \ge \alpha_2$ можно принять, если

$$\frac{p''_n}{p'_n} \ge \frac{1-\beta}{\alpha} . \tag{9.3}$$

Если же

$$\frac{\beta}{1-\alpha} < \frac{p''_n}{p'_n} < \frac{1-\beta}{\alpha} , \tag{9.4}$$

то испытания надо продолжать. При каждом новом наблюдении границы для отношения правдоподобия не меняются, меняется лишь само отношение. Это облегчает применение последовательного анализа, позволяет свести его к простым алгоритмам.

Если наблюдаемая случайная величина имеет нормальное распределение с заранее известной дисперсией σ^2, то условие продолжения испытаний можно преобразовать к виду

$$A_1 + bn < \Sigma x_i < A_2 + bn, \tag{9.5}$$

где

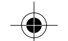
$$A_1 = 2{,}3\frac{\sigma^2}{\alpha_2 - \alpha_1}\lg\frac{\beta}{1-\alpha}, \quad A_2 = 2{,}3\frac{\sigma^2}{\alpha_2 - \alpha_1}\lg\frac{1-\beta}{\alpha}, \quad b = \frac{\alpha_1 + \alpha_2}{2} \tag{9.6}$$

Числа A_1 A_2 и b подсчитываются сразу же по исходным данным, благодаря чему дальнейшая проверка ведется только по сумме проделанных наблюдений и их числу.

Последовательный анализ нормально распределенной случайной величины особенно удобно проводить геометрически. Для этого после каждого наблюдения строят точку на координатной плоскости, откладывая по оси абсцисс число проделанных наблюдений *n,* а по оси ординат их сумму $\Sigma\, x_i$. Испытания нужно продолжать, пока эти точки будут находиться в полосе между прямыми $y = A_1 + bn$ и $y = A_2 + bn$ (см. рис. 9.1 и 9.2). Если же хоть одна точка окажется ниже этой полосы, анализ нужно прекращать и принимать гипотезу $\alpha \le \alpha_1$. Точно так же гипотеза $\alpha \ge \alpha_2$ принимается, как только хоть одна точка окажется выше указанной полосы.

Рассмотрим это на нашем примере. При фармакологических исследованиях антигипоксантов и средств, влияющих на метаболические процессы при ургентных состояниях, необходимы животные с разной чувствительностью к гипоксии. Такие животные-модели необходимы в космической и гипербарической фармакологии. Необходимо построить эксперимент по отбору животных (в нашей лаборатории это осуществляется на крысах Wistar) с целью получения гибридов первого поколения, устойчивых к гипоксии. Зададим условие, согласно которому число слабо устойчивых к гипоксии не может превышать 60%. В связи с естественной дисперсией и генетической неоднородностью групп животных возникает средняя квадратичная ошибка результатов, известная по большому числу предыдущих анализов и равная $\sigma = 0{,}24\%$.

Чтобы гарантировать добротность, требуется отбраковывать животных, имеющих низкую устойчивость к гипоксии и попадающих в выборку, превышающую 60%, с вероятностью не менее 0,95. В то же время нельзя отбраковывать животных, которые составляют выборку, превышающую 40%. Поэтому ставится еще одно требование – животных, попадающих в выборку не более чем на 58%, принимать с вероятностью 0,90.




Покажем, как для контроля устойчивых к гипоксии животных можно применить последовательный анализ. В поставленных условиях $\alpha_1 = 58$, $\beta_2 = 60$. Допустимые вероятности ошибок: $\alpha = 1 - 0{,}90 = 0{,}10$ и $\beta = 1 - 0{,}95 = 0{,}05$. Непосредственно вычисляем:

$$A_1 = 2{,}3\frac{0{,}24^2}{0{,}20}\lg\frac{0{,}05}{0{,}90} = -8{,}31 \qquad (9.7)$$

$$A_2 = 2{,}3\frac{0{,}24^2}{0{,}20}\lg\frac{0{,}05}{0{,}10} = 13{,}10 \qquad (9.8)$$

$$b = \frac{5{,}8 + 6{,}0}{2} = 5{,}9 \qquad (9.9)$$

Область продолжения анализов будет ограничена прямыми, которые построены на рис. 9.1.

$$y = -8{,}31 + 5{,}9n \text{ и } y = 13{,}10 + 5{,}9n. \qquad (9.10)$$

Анализ первой выборки животных дал результат 42%. Пусть ему соответствует на рис. 9.2 точка M_1 с абсциссой $n = 1$ и ординатой $y = 4{,}2$. Результаты исследований данной выборки (обозначим ее точкой M_1) находятся в статистической области «продолжения экспериментов», поэтому берем вторую выборку. Ее анализ дал результат 39%,

что соответствует условной точке M_2 с абсциссой $n = 2$ и ординатой $y = 42 + 39 = 81$. Испытания снова нужно продолжать. Третий анализ дал значение 36%, ему соответствует некая точка M_3 с абсциссой $n = 3$ и ординатой $y = 8{,}1 + 3{,}6 = 11{,}7$. Четвертому анализу с результатом 40% соответствовала бы точка M_4 ($n = 4$, $y = 15{,}7$). Наконец, пятая точка M_5, соответствующая еще одному анализу с результатом 44%, получает координаты $n = 5$, $y = 15{,}7 + 4{,}4 = 20{,}1$ и выходит за пределы «полосы M_4 продолжения испытаний» в ожидаемом нами направлении. Данную выборку животных можно считать соответствующей требованиям устойчивости к гипоксии (рис. 9.2).

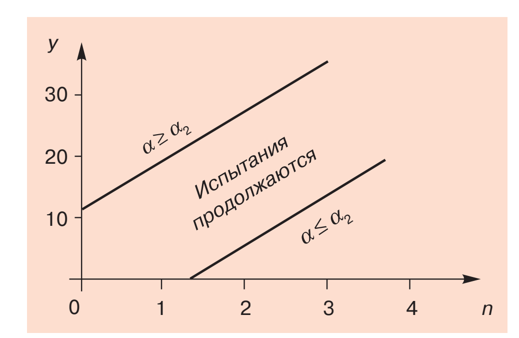
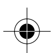


Рис. 9.1. Координатная плоскость и оси, определяющие проведенные эксперименты, иллюстрирующие, что в этих исследованиях нет животных, устойчивых к гипоксии





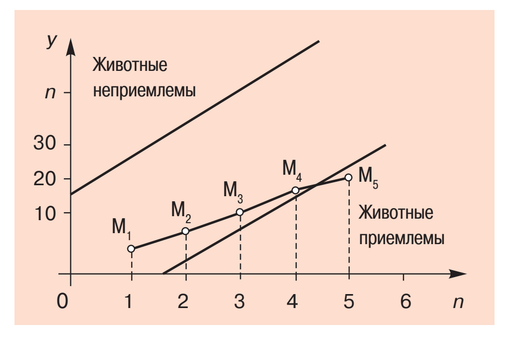


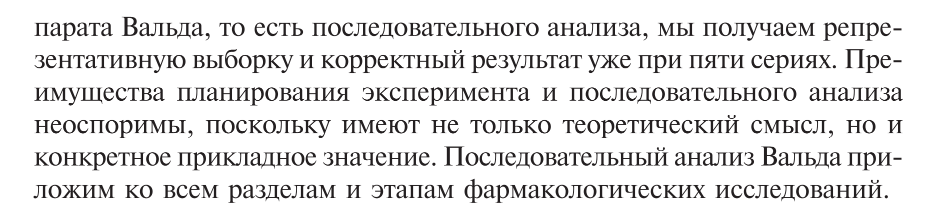
Рис. 9.2. Точка M_5 выходит за пределы необходимости продолжения экспериментов, иллюстрирующих наличие животных, устойчивых к гипоксии

Может показаться, что устойчивость к гипоксии видна уже из первого анализа. К сожалению, такой вывод поспешен, так как из-за высокого значения y мы не можем гарантировать заданные вероятности ошибок α и β.

Для решения поставленной задачи с помощью метода последовательного анализа нам понадобилось пять наблюдений. Если же мы захотим определить число наблюдений n заранее по формулам (см. главу 6), то мы получим:

$$n = (u_{0,90} + u_{0,95})^2 \left(\frac{\sigma}{\alpha_2 - \alpha_1} \right) (1{,}28 + 1{,}65)^2 \left(\frac{0{,}24}{0{,}20} \right)^2 \approx 13\,, \qquad (9.11)$$

то есть классический метод потребовал бы 13 серий экспериментов, в то время как при планировании и использовании математического ап-



парата Вальда, то есть последовательного анализа, мы получаем репрезентативную выборку и корректный результат уже при пяти сериях. Преимущества планирования эксперимента и последовательного анализа неоспоримы, поскольку имеют не только теоретический смысл, но и конкретное прикладное значение. Последовательный анализ Вальда приложим ко всем разделам и этапам фармакологических исследований.

Прогнозирование дозопереноса

Аллометрия может, как сильное средство для прогнозирования многих аспектов биологии животных, быть полезной в вопросах, когда надо избежать использования животных в эксперименте. Это также может быть сильным средством для предсказания относительности гуманности, осторожности и состояния животных-моделей, когда специфические данные для видов отсутствуют, например, в прогнозах режима доз для некоторых лекарств, по которым есть фармакодинамические преимущества, но нет фармакокинетических измерений по данному виду животных. Аллометрия также дает логический подход к временному масштабу распределения экспериментальных процедур или их последовательности [15], которые могут быть полезны, обеспечивая внутри этого аспекта строгость за счет сравнения экспериментальных данных с другими видами и человеком.




В следующей книге мы подробно рассмотрим животные и альтернативные модели для оценки токсичности ксенобиотиков и фармакологических веществ. Мы убедились в том, что коэффициенты переноса с биотест-объектов на человека могут иметь значения нескольких миллионов. Но и на животных они бывают весьма значительны и достигают сотен единиц (табл. 9.1). Но здесь есть еще одно кардинальное различие, носящее пока непреодолимый характер для многих альтернативных моделей. Оно связано с необходимостью оценки эффективных доз для фармакологических, биологически активных веществ, ксенобиотиков и токсикантов. Клеточные культуры не позволяют судить о фармако- и токсикодинамике веществ, выявить механизмы их системного действия (а ведь в этом вся соль научного поиска!), осуществить выбор первой дозы нового лекарственного средства даже для первой фазы клинической оценки. Сомнительно также, что это возможно будет сделать на насекомых, рыбах и амфибиях в требуемом объеме.

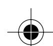
Хочу сразу предупредить, что эта таблица, построенная по расчетным параметрам удельной поверхности тела человека и животных, то есть наиболее представительно отражающая всеобщую аллометричес-

кую закономерность не только для животного, но и растительного мира, тем не менее, не может быть принята за абсолют. Эффекты и дозовые характеристики будут меняться в зависимости от сезона, климато-географических условий, условий содержания и, бог знает, от скольких еще не учтенных переменных.

Таблица 9.1

Примерные соответствия дозопереноса

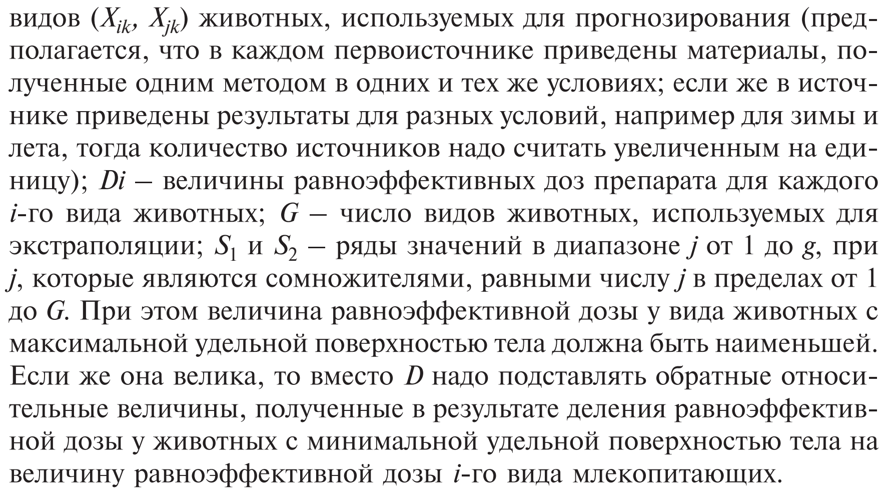
Биообъект	Мышь, 20 г	Крыса, 200 г	Морская свинка, 400 г.	Кролик, 1,5 кг	Кошка, 2 кг	Обезьяна, 4 кг	Собака, 12 кг	Мини-свинья, 40 кг	Человек, 70 кг
Мышь, 20 г	1	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	221,7	387,9
Крыса, 200 г	0,14	1	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	37,7	66,0
Морская свинка, 400 г	0,08	0,75	1	2,25	2,4	5,2	10,2	17,8	31,2
Кролик, 1,5 кг	0,01	0,25	0,44	1	1,08	2,4	4,5	8,1	14,2
Кошка, 2 кг	0,03	0,23	0,41	0,92	1	2,2	4,1	7,4	13,0
Обезьяна, 4 кг	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1	1,9	4,6	8,1
Собака, 12 кг	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1	1,77	3,1
Мини-свинья, 40 кг	0,0015	0,01	0,018	0,04	0,034	0,09	0,18	1	1,77
Человек, 70 кг	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,31	1,03	1




В отличие от научных ортодоксов (очень неприятные типы), достаточно гибкие ученые-конформисты решили не брать на себя всю меру ответственности за экстраполяционные коэффициенты, а предложили самим экспериментаторам взять на себя труд по вычислению величин переноса (E) и ответственность за обоснование прогностических параметров:

$$E = \frac{1}{R} \times \sum_{k=1}^{k=\tau} X_k \times \sum_{i=1}^{i=g} \frac{D_i}{X_{ik}} \times \begin{bmatrix} j=g & j=g \\ S_1 \;:\; & S_2 \\ j=1 & j=1 \end{bmatrix} \left(X_k - X_{jk}\right), \qquad (9.12)$$

где R – число литературных источников, в которых приведены характеристики основного обмена одновременно для человека (X_k) и всех



видов (X_{ik}, X_{jk}) животных, используемых для прогнозирования (предполагается, что в каждом первоисточнике приведены материалы, полученные одним методом в одних и тех же условиях; если же в источнике приведены результаты для разных условий, например для зимы и лета, тогда количество источников надо считать увеличенным на единицу); *Di* – величины равноэффективных доз препарата для каждого *i*-го вида животных; *G* – число видов животных, используемых для экстраполяции; S_1 и S_2 – ряды значений в диапазоне *j* от 1 до *g*, при *j*, которые являются сомножителями, равными числу *j* в пределах от 1 до *G*. При этом величина равноэффективной дозы у вида животных с максимальной удельной поверхностью тела должна быть наименьшей. Если же она велика, то вместо *D* надо подставлять обратные относительные величины, полученные в результате деления равноэффективной дозы у животных с минимальной удельной поверхностью тела на величину равноэффективной дозы *i*-го вида млекопитающих.

Это вряд ли является примером математического моделирования, но выглядит, по крайней мере, угрожающе серьезно. Кстати, далеко не все математические описания можно отнести к моделям, несмотря на то, что авторы их так величают.




Функции Байеса в алгоритмах скрининга ФАВ

Скрининг физиологически активных веществ (ФАВ) относится к эмпирическим методам поиска новых лекарственных средств. Основной принцип скрининга – многократно повторяющаяся процедура, на каждой стадии которой полученная информация определяет выбор методов, необходимых для дальнейшего уточнения характеристик действия или отсева ФАВ. В связи с этим организация процедуры скрининга определяется структурой последовательных этапов (или можно говорить о структуре функциональных белков), необходимых для определения компонентов спектра физиологических свойств изучаемых веществ [1, 4, 9].

Формализация процедуры скрининга и реализация этой формализованной процедуры в виде компьютерной программы требует стандартизации измеряемых параметров. В то же время количественное описание эффектов действия веществ должно удовлетворять общепринятым в фармакологии характеристикам. Поэтому разработка алгоритма автоматизированного скрининга ФАВ связана прежде всего с использованием многопараметрических зависимостей, которые позволяют отбирать и сопоставлять изучаемые вещества, а также включает применение математических методов и алгоритмов обработки экспериментальных данных.

Профессором В.В.Хоронько в нашей лаборатории разработан алгоритм скрининга психотропных препаратов, который включает в себя совокупность взаимосвязанных характеристик, относящихся к метаболическому (биохимическому), ультраструктурному (субклеточному) и системному (в данном случае фарм-ЭЭГ) уровням организации, которые позволили конкретизировать и количественно сопоставить результаты изучения ФАВ [5, 8].

NB! Проведение скрининга ФАВ – это комплексная проблема, включающая множество теоретических и практических задач как физиологического и фармакологического характера, так и вопросов, связанных с выбором и использованием математических методов и алгоритмов сбора, преобразования, интерпретации и отображения информации, которые предшествуют заключительному этапу принятия решения о вероятных характеристиках исследуемого вещества.

Схематически модель проведения скрининга можно представить в виде *двухуровневой системы*, в которой на нижнем, первичном, уровне располагаются методики первичного скрининга ФАВ, а на верхнем – системы анализа, интерпретации результатов и принятия решения. Методы, формирующие систему, можно разделить на две основные группы. К *первой* из них следует отнести методы, результаты использования которых не могут быть интерпретированы изолированно, а приобретают значение только при совместном анализе всей совокупности полученных данных. Ко *второй* группе следует отнести методы, позволяющие непосредственно оценить действие вещества на состояние изучаемых систем организма и определить перспективность фармакологического вещества в качестве вероятного лекарственного препарата.




Характеристики *нижнего уровня* методологической иерархии отображают проведение первичных испытаний веществ, первичную обработку полученных данных, анализ этих результатов и формирование предварительных выводов о принадлежности ФАВ.

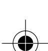
Дальнейший анализ требует перехода на более *высокий уровень* методологической иерархии: выбор стратегии испытания веществ, сбор, хранение и обработка сведений, поступающих от подсистем о результатах испытаний, организация обмена данными между подсистемами, анализ суммарных экспериментальных данных и оценок, определяющий фармакологическую принадлежность изучаемого вещества.

В связи с этим следует отметить, что процедура принятия решения требует для своей реализации не только анализа всей совокупности данных, прошедших первичную обработку, но должна также включать и результаты более глубокого анализа, проведенного в подсисте-

мах. Это позволяет определить компоненты спектра физиологического действия веществ с высокой степенью достоверности.

Для идентификации вида активности ФАВ используются методы распознавания образов, включающие те или иные вероятностные схемы. Однако следует отметить, что при доклинических испытаниях ФАВ информативные параметры в пространстве признаков распределены неравномерно. Вследствие этого следует использовать алгоритмы, обладающие специфической чувствительностью к геометрическим характеристикам разделяемых классов и обучающей выборки [14].

Нижний С.В. и Дмитриев Н.В. [9] предложили методы, основанные на использовании математической теории эксперимента, которые позволяют решать задачи математического описания и оптимизации многофакторных экспериментов, исходя из необходимых статистических свойств моделей. В то же время известны примеры использования так называемого байесовского подхода для классификации различных состояний [10, 13, 14, 16]. Herrmman et al. [17] использовали подобный подход для разработки классификационного правила для четырех классов психотропных средств с использованием метода фарм-ЭЭГ.




Байесовский подход в нашей модификации включал анализ изменений содержания белка S-100 в нескольких структурах головного мозга, анализ ультраструктурных изменений при воздействии психотропных препаратов, а также анализ изменений в электроэнцефалограмме, выявленных с помощью метода количественной фарм-ЭЭГ.

Профессором Ю.С. Макляковым [8] был проведен скрининг в ряду 4Н-хроменов – веществ, синтезированных в Ростовском НИИФОХ. В результате было выявлено соединение гидрохлорид-2,4-дифенил(N-морфолинометил)4Н-хромена (по нашей классификации – *адепрес*), которое в диапазоне доз 25–100мг/кг по ряду тестов обладало антидепрессивными свойствами в сопоставлении с наиболее широко применяемым в психиатрической практике имипрамином. Причем изучаемое вещество обладало в 20 раз меньшей токсичностью и почти в 25 раз более широким терапевтическим индексом в сравнении с имипрамином. Это вещество запатентовано нами как перспективный антидепрессант с рабочим названием *адепрес*.

Адепрес

В ряду 4Н-хроменов нами было выявлено и запатентовано вещество – гидрохлорид-2фенил-3-(N-пиперидинометил)-4-метил-4Н-хромен (по нашей классификации – вещество *психолепт*), которое в диапазоне доз 25–50 мг/кг по ряду тестов обладало

нейролептическими свойствами в сопоставлении с хорошо изученным препаратом галоперидолом.

Осуществлялся скрининг и фармакологическое изучение запатентованного комплекса пептидных веществ из мицелия гриба *Polyporus squatosus* (*глюпепт*). В процессе исследования было выявлено, что наиболее активная фракция комплекса пептидных соединений в диапазоне доз 25–50 мг/кг обладает свойствами препаратов группы психотомиметиков (препарат запатентован).

Психолепт

В тестах исследуемое соединение оказывало действие, свойственное «селективному» психотомиметику *психогал* (3,4-метилендиоксифенилизопропиламин). Исследуемое пептидное соединение обладает крайне низкой токсичностью (ЛД$_{50}$ более 5000 мг/кг).

Данные литературы, а также проведенные в нашей лаборатории исследования [4, 5, 8] дают основания сделать вывод, что эндогенное производное пиримидина – *уридин* – обладает анксиолитическими свойствами и в дозе 12 мг/кг вызывает эффекты, свойственные диазепаму, обладая более чем в 20 раз меньшей токсичностью и в 2 раза более широким терапевтическим индексом (препарат *утеплекс*).




Таким образом, в своей работе мы использовали новые психоактивные соединения *адепрес* (30 мг/кг), *психолепт* (50 мг/кг), *глюпепт* (100 мг/кг), *психогал* (5 мг/кг) и *уридин* (16 мг/кг), обладающие антидепрессивной, нейролептической, психотомиметической и анксиолитической психотропной активностью, соответственно. Наряду с этим мы использовали известные психотропные средства в следующих дозах: *галоперидол* – 3 мг/кг, диазепам 5 мг/кг, *имипрамин* – 25 мг/кг, *фенамин* – 3 мг/кг, *пирацетам* – 500 мг/кг. Все исследуемые препараты вводились крысам внутрибрюшинно. В контрольных опытах использовался изотонический раствор хлорида натрия.

Байесовский подход в биохимической фармакологии. В качестве информативной характеристики психотропного воздействия нами было выбрано изменение содержания белка S-100 в изученных отделах мозга. При этом предполагалось, что отсутствие изменений содержания этого белка после введения исследуемого соединения в организм животного можно с определенной степенью вероятности трактовать как отсутствие психотропного воздействия [5, 8]. Ниже мы постараемся количественно обосновать это утверждение.

Хоронько В.В. разработал алгоритм и соответствующую программу, которые позволяли определить вероятность наличия или отсут-

ствия психотропного воздействия. Процесс принятия решения осуществлялся в два этапа. Прежде всего решалась альтернативная задача, то есть выбиралась одна из двух гипотез: а) препарат можно отнести к классу психотропных средств; б) препарат нельзя отнести к классу психотропных средств.

Если препарат можно отнести к классу психотропных средств, то осуществлялся более сложный процесс распознавания на основе использования формулы полной вероятности или, как ее еще называют, формулы Байеса [10]. На рис. 9.3 приведена схема использованного алгоритма принятия решения. Этот же алгоритм использовался в дальнейшем и при анализе ультраструктурных изменений в ЦНС и параметров фарм-ЭЭГ.

Алгоритм принятия решения включает в себя в качестве эталонных параметры, характеризующие изменения содержания белка S-100 в различных областях головного мозга животных под влиянием нейролептиков, транквилизаторов, антидепрессантов, психостимуляторов и психотомиметиков.

Алгоритм исходит из предпосылки, что при проведении эксперимента можно сделать ряд предположений, исходя из взаимоисключа-



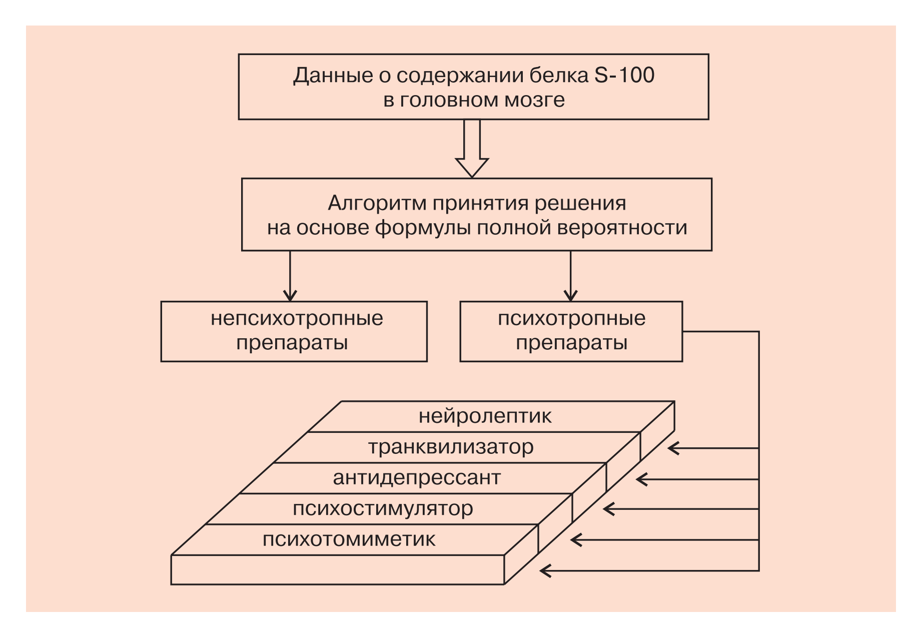



Рис. 9.3. Схема, иллюстрирующая этапы принятия решения на основе сопоставления данных изменения содержания белка S-100 в различных областях мозга при воздействии психотропных препаратов

ющих гипотез. Так, на первом этапе осуществляется проверка двух альтернативных гипотез:

H_{01} – исследуемое вещество обладает психотропной активностью,

H_{02} – исследуемое вещество нельзя отнести к психотропным препаратам.

Если установлено, что вещество обладает психотропным действием, то алгоритм переходит ко второму этапу. В этом случае предполагаем, что при проведении эксперимента можно сделать M исключающих друг друга гипотез:

$$H_1 \; H_2 \quad \ldots \quad H_L \qquad (L = 1 \ldots\ldots\ldots\ldots M)$$

где $M = 5$ и величина M подразумевает 5 гипотез:

H_1 – вещество обладает свойствами нейролептика;

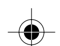
H_2 – вещество можно отнести к группе транквилизаторов;

H_3 – вещество обладает антидепрессивной активностью;

H_4 – вещество можно отнести к группе психостимуляторов;

H_5 – вещество обладает свойствами психотомиметика.

Для реализации алгоритма нами были использованы данные изменения содержания белка S-100 в неокортексе, гиппокампе, промежуточном мозге и стволе мозга в процентах (табл. 9.2).




Для этого определялась вероятность изменений содержания белка S-100 в каждой изученной области мозга в диапазоне отклонений

Таблица 9.2

Изменение содержания белка S-100 головного мозга крыс при действии психотропных препаратов и новых психоактивных соединений (в % от контроля)

Название препарата	Доза, мг/кг	Неокортекс	Гиппокамп	Промежуточный мозг	Ствол мозга
Галоперидол	3	+93,8**	+64,7**	+57,8**	+58,3**
Психолепт	50	+39,5**	+62,5**	+13,4	-4,5
Диазепам	5	+105,0**	+17,1	+98,4**	+100,0**
Уридин	12	-3,0	-8,8	+18,7**	+49,8**
Имипрамин	25	+58,1**	+57,6**	+62,4**	+61,5**
Адепрес	30	+82,0**	+70,9**	+80,5**	+2,9
Фенамин	3	+26,0**	+12,7**	+41,7**	0
Пирацетам	500	+8,3	+39,6**	+5,2	+24,9*
Психогал	5	+17,4**	+24,4**	-12,8**	+32,3**
Глюпепт	100	-28,9**	+12,3	-32,9**	+36,9**

* $p < 0{,}05$; ** $p > 0{,}05$

от -50% до 250%. На рисунке 9.4 изображен вид такого распределения на примере галоперидола. Гистограмма (рис. 9.4) показывает распределение частоты встречаемости отклонений величин изменения содержания белка S-100 в стволе головного мозга под действием галоперидола.

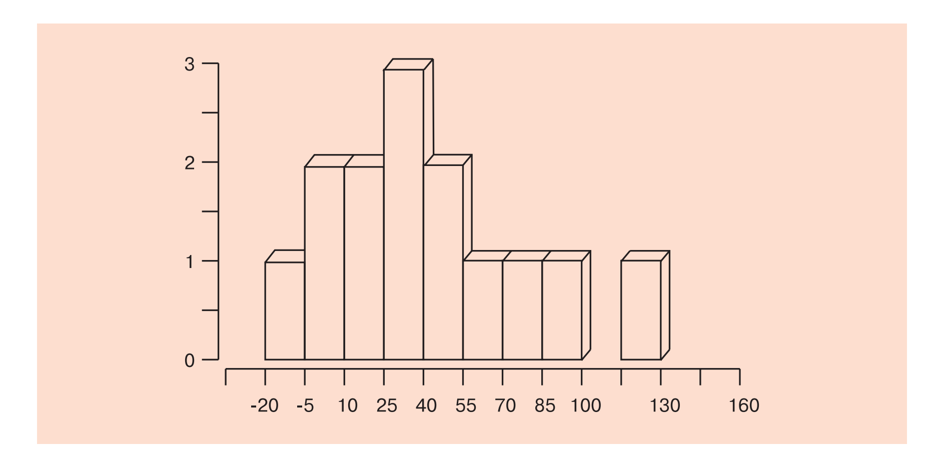


Рис. 9.4. Зависимость частоты встречаемости отклонения величин изменения содержания белка S-100 от контроля при воздействии *галоперидола* в стволе головного мозга крыс (по оси абсцисс: возрастание содержания белка S-100 в процентах в определенном диапазоне; по оси ординат: F_1 – частота встречаемости величин X_1)

Например, максимальная частота $F_i(H_i) = 3$ по изучаемой группе животных в данной области мозга соответствовала диапазону возрастания от 25% до 40% или вероятности $P(X_i/H_i) = 0{,}214$ ((см. формулу полной вероятности Байеса (9.13)). Аналогичные характеристики определялись для всех групп психотропных средств в изучаемых областях мозга. По величинам F_i в дальнейшем определяли вероятность:

$$P(X_i / H_i) = \frac{F_i(H_L)}{\sum_{I=1}^{N} F_i(H_L)}, \qquad (9.13)$$

где N – число диапазонов разбиения; $F_i(H_L)$ – частота встречаемости отклонения X_i в первом диапазоне; H_L – принадлежность к определенному классу психотропных препаратов, вычисляемая по формуле:

$$P(A_L) = \sum_{i=1}^{N} P(H_i) \times P(A_L / H_L), \qquad (9.14)$$

где $P(H_i)$ – вероятность гипотезы H_i; $P(A_L/H_i)$ – условная вероятность события A_L по этой гипотезе.

Вероятность события A_L (принадлежность к определенной группе психотропных препаратов) вычисляется по формуле:

$$P(A_L/H_i) = \frac{P(X_i/H_L)}{\sum_{i=1}^{N} P(X_i/H_L)}. \qquad (9.15)$$

Полученные распределения вероятностей содержания белка S-100 для всех изучаемых областей мозга под воздействием психотропных средств с известным сектором фармакологической активности позволили сформировать обучающую выборку для анализа наличия у ФАВ свойств, способных вызывать изменения в структуре распределения белка S-100 в головном мозге. Этап анализа изменений содержания белка S-100 составляет один из блоков автоматизированной системы отбора ФАВ, наряду с блоками учета влияния психотропных средств и ФАВ на ультраструктурные изменения клеток мозга и фарм-ЭЭГ, которые рассматриваются в следующих разделах настоящей работы. Информация, полученная в блоке белка S-100, в дальнейшем сопоставлялась с аналогичной информацией, полученной в блоках ультраструктурных изменений [23] и фарм-ЭЭГ, и на её основе формировался обобщенный вероятностный профиль ФАВ.

Байесовский подход в фармакоморфологии. При исследовании действия ФАВ на ультраструктуры нервных клеток головного мозга крыс прослеживаются общие и индивидуальные закономерности, свойственные для отдельных групп психотропных средств (нейролептиков, транквилизаторов, антидепрессантов, психостимуляторов, психотомиметиков).

Характерные особенности влияния психотропных средств на клеточном и субклеточном уровнях позволили обобщить и формализовать полученную в ходе проведенных исследований информацию. Проявление общих и индивидуальных особенностей действия ФАВ на клеточном и субклеточном уровнях дает возможность выявить не только механизм действия, но и прогнозировать их принадлежность к определенной группе психотропных средств в процессе скрининга.

Для реализации алгоритма принятия решения необходимо было провести формализацию полученной информации с целью её преобразования из качественной и описательной формы в количественную форму. Нами были обработаны и обобщены характерные изменения в следующих внутриклеточных структурах и органеллах:

✓ ядро,
✓ пластинчатый комплекс,

- ✓ цитоплазматическая сеть,
- ✓ рибосомы и полисомы,
- ✓ митохондрии,
- ✓ лизосомы,
- ✓ мультивезикулярные тельца (МВТ),
- ✓ окаймленные везикулы (ОВ) и субповерхностные цистерны (СПЦ),
- ✓ синапсы,
- ✓ глиальные элементы.

Причем внутри каждой из этих 10 характеристик оценивалось от 3 до 8 параметров (например, в табл. 9.3 для ядра их 8). Отсутствие изменений какого-либо параметра обозначалось 0 (нулем), наличие – 1 (единицей). Формализация перечисленных внутриклеточных структур и органелл проводилась следующим образом: например, для описания характеристик изменений в ядре формировалась матрица размером 20 столбцов и 8 строк (табл. 9.3). Каждая строка соответствовала изменениям в ядре (инвагинации кариолеммы, инвагинации в ядре темных клеток Пуркинье, наличие внутриядерных включений, активация ядрышка и т.д.). Каждый столбец соответствовал определенной зоне мозга и воздействию определенного психотропного препарата, а так как было изучено 4 зоны мозга и определялись характеристики принадлежности к 5 группам препаратов, то таких столбцов было 20.




Всего этот блок автоматизированной системы поиска ФАВ содержал 10 таких матриц по количеству перечисленных выше внутриклеточных структур и органелл. Например, если нейролептик вызывает появление внутриядерных включений в таламусе и активацию ядрышек, то для нейролептика соответствующие элементы матрицы будут равны 1. Аналогичным образом обозначены изменения и в других областях мозга (табл. 9.3).

Алгоритм принятия решения состоял из следующих этапов:

1. Оценка наличия или отсутствия изменений параметров для определенной области мозга.
2. Вычисление вероятности появления этих изменений для определенной области мозга (кора, гиппокамп, промежуточный мозг, ствол мозга) и для пяти групп веществ (нейролептик, транквилизатор, антидепрессант, психостимулятор, психотомиметик). Если изменений не наблюдалось, то соответствующей переменной присваивалось значение, равное 0; если изменения присутствовали, то соответствующей переменной присваивалось значение, равное 1.
3. Определение вероятности в рамках изучаемой группы событий и получение итоговой вероятности принадлежности к одной из пяти

групп психотропных средств в блоке анализа ультраструктурных изменений.

Таблица 9.3

Ядро формализации изменений характеристик после воздействия психотропных средств

	1	2	3	4	5	6	7	8
Галоперидол								
А	0	0	0	0	0	0	0	0
Б	0	0	0	1	1	0	0	0
В	0	1	0	1	1	0	0	0
Г	0	0	0	0	0	0	1	0
Диазепам								
А	0	0	0	0	0	0	0	0
Б	0	0	0	0	0	0	0	0
В	0	0	1	0	1	0	0	0
Г	0	1	0	0	0	0	0	0
Имипрамин								
А	0	1	0	1	1	0	0	0
Б	0	0	0	0	0	0	0	0
В	0	1	0	0	0	0	0	0
Г	0	1	0	0	0	0	1	0
Фенамин								
А	1	0	0	0	0	1	0	1
Б	0	0	0	0	0	0	0	0
В	0	0	0	0	1	1	0	1
Г	0	1	0	1	1	0	0	1
Психогал								
А	1	0	1	0	0	0	0	0
Б	1	1	1	0	0	0	0	0
В	0	0	0	0	0	0	0	0
Г	0	0	0	0	0	0	0	0




Примечание: А – сенсомоторная кора, Б – гипоталамус, В – гиппокамп, Г – центральное серое вещество; 1 – инвагинация кариолемы, 2 – инвагинация в ядра темных клеток Пуркинье, 3 – инвагинация в ядра светлых клеток Пуркинье, 4 – внутриядерные включения, 5 – активация ядрышек, 6 – увеличение размеров ядрышек, 7 – фрагментация ядра, 8 – ядрышковые тельца

Байесовский подход к анализу фарм-ЭЭГ. При изучении воздействия различных групп психотропных средств на характеристики фарм-ЭЭГ нами выделено несколько информативных параметров, которые можно использовать для проведения процедуры воздействия психотропных средств на характеристики фарм-ЭЭГ и дальнейшей обработки данных на ЭВМ. Использовались семь информативных параметров: 1) изменения фарм-ЭЭГ в диапазоне 1-3 Гц; 2) изменения

фарм-ЭЭГ в диапазоне 4–7 Гц; 3) изменения фарм-ЭЭГ в диапазоне 8–12 Гц; 4) изменения фарм-ЭЭГ в диапазоне 13–20 Гц; 5) изменения фарм-ЭЭГ в диапазоне 21–32 Гц; 6) активация ЭЭГ; 7) синхронизация ЭЭГ.

Оценка изменений фарм-ЭЭГ в перечисленных диапазонах производилась с помощью количественного анализа изменений частотной структуры ЭЭГ по усредненным спектральным характеристикам, полученным с помощью кластерного анализа. Для параметров 1-5 величина изменений оценивалась количественно по отношению площадей кластеров изменений частотной структуры фарм-ЭЭГ для выбранного диапазона частот, а для параметров 6 и 7 – по амплитудным характеристикам фарм-ЭЭГ, причем каждый параметр имел 7 градаций:

+/–3 значительные изменения (если +, то в сторону увеличения, если –, то в сторону уменьшения параметра, более 25%);

+/–2 выраженные изменения (если +, то в сторону увеличения, если –, то в сторону уменьшения параметра, в диапазоне от 10 до 25%);

+/–1 слабые изменения (если +, то в сторону увеличения, если –, то в сторону уменьшения параметра, менее 10%);


0 – отсутствие изменений.

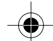

В таблице 9.4 приведены характеристики отклонений параметров от фоновых значений. Диазепам вызывал значительное увеличение спектральной мощности фарм-ЭЭГ в диапазоне 8–12 Гц, выраженное увеличение – в диапазоне 1–3 Гц, умеренное увеличение – в диапазоне 4–7 Гц и 13–20 Гц, а также выраженную синхронизацию ЭЭГ. Галоперидол вызывал значительное увеличение спектральной мощности фарм-ЭЭГ в диапазоне 4–7 Гц, выраженное увеличение в диапазоне 8–12 Гц, умеренное увеличение в диапазоне 1–3 Гц, наблюдалась также выраженная синхронизация ЭЭГ-активности. Психолепт, как и галопердол, увеличивал спектральную мощность фарм-ЭЭГ в диапазонах 4–7 и 8–12 Гц. Однако в диапазоне 1–3 Гц подобных изменений не обнаруживалось, а синхронизация была менее выраженной, чем при воздействии галоперидола. Имипрамин и адепрес вызывали слабое увеличение спектральной мощности фарм-ЭЭГ в диапазоне 4–7 Гц, наблюдалась выраженная синхронизация ЭЭГ-активности. Фенамин вызывал значительное уменьшение спектральной мощности в области 1–3 Гц, наблюдалась также выраженная активация ЭЭГ активности. Психотомиметики – психогал и глюпепт – вызывали снижение спектральной мощности в области 1–3 Гц и ее увеличение в диапазоне 4–7 Гц. Однако глюпепт практически не изменял частотную структуру ЭЭГ в диапазоне от 8 до 32 Гц, в то время как психогал значительно

снижал мощность в области 8–12 Гц. Активация была существенной как при воздействии психогала, так и глюпепта, но синхронизацию вызывал только глюпепт. Пирацетам вызывал возрастание мощности в диапазонах от 8 до 32 Гц и слабую активизацию ЭЭГ.

Таблица 9.4

Изменения показателей фарм-ЭЭГ после воздействия различных психотропных средств

Эффект/ препарат	1-3 Гц	4-7 Гц	8-12 Гц	13-20 Гц	21-32 Гц	Активация	Синхронизация
Диазепам	+2	+1	+3	+1	0	0	+2
Уридин	+2	+1	+2	+2	-1	0	+2
Галоперидол	+1	+3	+2	0	0	0	+2
Психолепт	0	+2	+2	0	0	0	+1
Имипрамин	+3	+1	-2	-2	+2	0	+2
Адепрес	+2	+1	-2	-1	+2	0	+2
Фенамин	-3	+3	-3	+1	+3	+3	0
Пирацетам	0	0	+1	+1	+2	+1	0
Психогал	-3	+2	-3	-1	+1	+3	0
Глюпепт	-1	+1	0	0	0	+2	0




Классификация ФАВ по В.В. Хоронько

Использованный метод позволяет определить, в какой степени исследуемое соединение относится к каждому из 5 эталонных соединений (нейролептикам, транквилизаторам, антидепрессантам, психостимуляторам и психотомиметикам). Схема изображенна на рис. 9.5. В этом простейшем случае, когда рассматриваются всего два параметра или принадлежность всего к двум гипотетическим классам соединений A и B, легко видеть, что если препарат H_1 принадлежит к классу соединений A, то его вероятность принадлежности к этому классу меньше 1 и равна $P(H_1/A)$, также существует вполне определенная вероятность его принадлежности и к классу B, которая равна $P(H_1/B)$. То же самое справедливо и для препарата H_2, который принадлежит к классу соединений B, и вероятность его принадлежности к этому классу равна $P(H_2/B)$, а вероятность его принадлежности к классу A равна $P(H_2/A)$. Как видно из рис. 9.5 справа, $P(H_1/A)$ много больше $P(H_1/B)$, а $P(H_2/B)$ много больше $P(H_2/A)$. Это позволяет считать препарат H_1 веществом со свойствами соединений класса A и с наличием определенных, но в меньшей степени, свойств соединений класса B. Аналогичные рассуждения справедливы и для препарата H_2.

При реализации алгоритма оценивается степень совпадения изменений ЭЭГ с эталонными данными для 5 групп препаратов, а затем определяются вероятности принадлежности в рамках изменений информативных препаратов, характерных для этих групп препаратов.

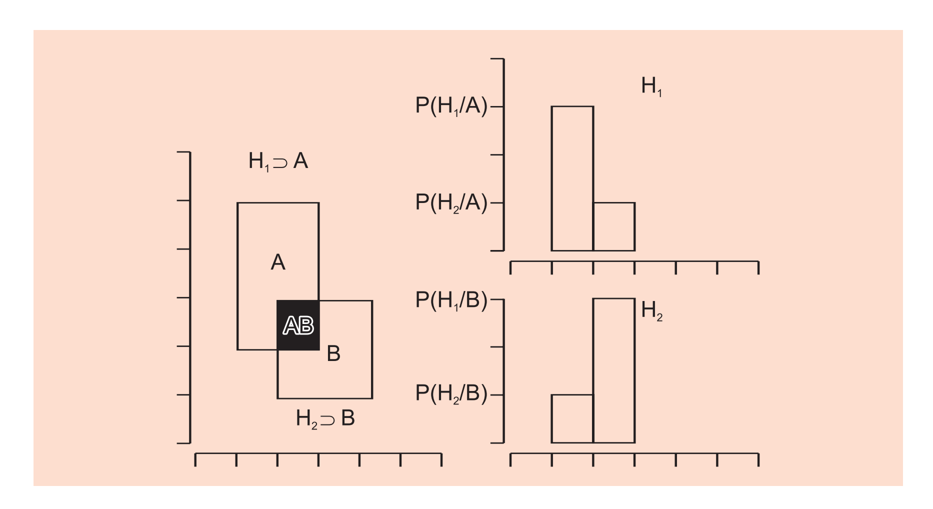


Рис. 9.5. Схема, иллюстрирующая принадлежность препаратов H_1 и H_2 к двум гипотетическим классам соединений A и B. $P(H_1/A) = 1 - S_{AB}/S_A$; $P(H_2/A) = 1 - S_{AB}/S_B$; $P(H_1/B) = 1 - S_{AB}/S_A$; $P(H_1/B) = 1 - S_{AB}/S_B$, где S_A, S_B, S_{AB} – площади областей в пространстве состояний

NB! Нами установлено, что даже сами эталонные препараты при осуществлении процедуры распознания не являются на 100% «чистыми» нейролептиками, психостимуляторами, транквилизаторами и т.д., каждый из них имеет максимальную вероятность принадлежности к своему классу соединений и определенные, меньшие по своей величине, вероятности принадлежности к остальным 5 классам соединений.

Проблему классификации ФАВ и особенностей их действия можно отнести к прикладным задачам, изученным с недостаточной полнотой, когда генез используемых для классификации параметров известен лишь частично. С точки зрения теории распознавания образов, можно говорить о размытости естественных классов образов у ФАВ и лекарственных веществ. Однако для разработки моделей, использованных нами для классификации ФАВ, подобный подход пригоден, так как позволяет установить совокупность признаков, обеспечивающих предсказание вероятностей преимущественной принадлежности исследованных ФАВ и лекарственных препаратов. Различия вероятностей принадлежности изучаемых соединений внутри

одной из групп могут быть обусловлены характером и особенностями их специфического и неспецифического действия, различиями в фармакокинетике.

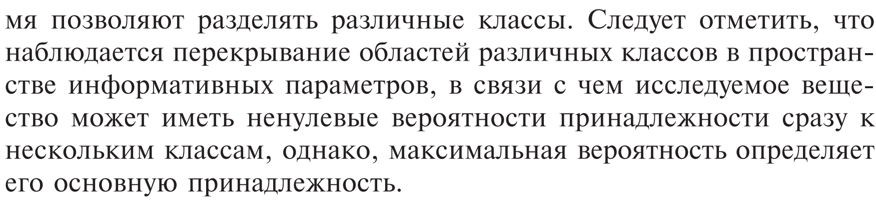
Одним из путей устранения рассогласования при решении данного вопроса в рамках предложенной Ю.С.Макляковым системы *автоматизированного скрининга* является использование эмпирической классификации или ее упрощенный и более удобный вариант – так называемая *прагматическая классификация* [5, 9]. Особенностью такой классификации является формирование классов веществ на основе совокупности признаков, полученной *эмпирически*. В нашем случае это было осуществлено при параметризации электрофизиологических реакций, биохимических и ультраструктурных изменений в ответ на введение исследуемых веществ с определенными особенностями воздействия на организм. В этом случае классификация исследуемых соединений осуществляется в ходе скрининга путем установления определенной степени вероятности идентичности их действия с эталонными веществами, представляющими данный класс, на основе той же стандартизированной совокупности признаков.




Эмпирическая классификация ФАВ является в значительной степени аналогом «обучения с учителем» – одного из наиболее распространенных методов теории и практики *распознания образов*. Существенным отличием эмпирического подхода к классификации служит возможность эвристического выделения наиболее представительных и информативных признаков.

Другой важной особенностью эмпирического подхода к процессу проведения классификации подвергшихся скринингу ФАВ является возможность ее последовательного уточнения в процессе получения результатов обучения. При таком подходе сформированный *вектор образа вещества* содержит всю достоверную эмпирическую информацию независимо от уровней организации биосистемы, на котором осуществлялось обучение. Такой подход позволяющий не только контролировать размывание классов, но и, в зависимости от целей испытаний, расчет вероятности принадлежности ФАВ к тому или иному классу, может быть реализован в виде интегративной процедуры с последовательной уточняющейся достоверностью.

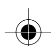
Следует особо остановиться на том, что даже в пределах довольно узких классов психотропных средств (по их активности) может не оказаться двух одинаковых веществ, обладающих полностью идентичными свойствами. Это создает необходимость определения границ классов, включающих в себя такие граничные условия, которые позволяют учитывать различия внутри каждого класса и в то же вре-



мя позволяют разделять различные классы. Следует отметить, что наблюдается перекрывание областей различных классов в пространстве информативных параметров, в связи с чем исследуемое вещество может иметь ненулевые вероятности принадлежности сразу к нескольким классам, однако, максимальная вероятность определяет его основную принадлежность.

Это позволяет отнести каждое вещество к классу, заданному в стандартизированном и упорядоченном пространстве признаков, и вести скрининг или идентификацию путем вычисления вероятностей принадлежности сразу к нескольким классам психотропных средств. В то же время отпадает необходимость в анализе причин возникновения тех или иных эффектов, составляющих особенности действия ФАВ. Вместо этого исследователь опирается на банк эталонных данных с последующей процедурой многокритериального сопоставления и интерпретации результатов сопоставления эталонов с каждым исследуемым веществом.

Принятие решений




Как бы тщательно не был осуществлен анализ и дана интерпретация результатов экспериментов, перед исследователем стоит задача принятия решения. Под понятием «принятие решения» подразумевается применение математических и количественных методов для обоснования решений. Оно включает в себя: постановку задачи, построение математической модели, нахождение метода решения, проверку и корректировку модели, реализацию найденного решения в виде нахождения экстраполяционных параметров переноса с биомодели на прототип человека или другого животного.

Математическая модель строится на основе достаточно строгой, логически непротиворечивой, содержательной постановки задачи. Этот процесс называется формализацией задачи.

В том случае, когда все действующие в эксперименте факторы определены и достоверны, а случайные воздействия отсутствуют, мы сталкиваемся с ситуацией *принятия решений в условиях определенности*. Например, необходимо испытать активность нового жаропонижающего средства при экспериментальной гиперэргии. Результат исследования даст абсолютно однозначный ответ о наличии эффекта. Более того, исследователь получит однозначные количественные показатели этого действия, выраженные в градусах Цельсия. Аллометрические уравнения часто использовали для описания вариации некоторых параметров между видами. В этих случаях они должны быть получены из средних значе-

ний для каждого вида, и, таким образом, получив одно уравнение, мы получаем данные для других видов. И наоборот, анализ может быть проведен внутри вида по отдельным особям, между средними значениями для сходных родов, или между средними для каждого рода внутри класса. Полученная регрессия часто зависит от анализа таксономического уровня [19, 21]. Bennett и Harvey [12] нашли, например, что аллометрическая экспонента в их уравнениях зависит от метаболической нормы в соответствии с весом тела и варьирует у птиц >0,9 между родами, и внутри классов <0,7 между видами. Естественно, что такое решение отвечает условиям определенности.

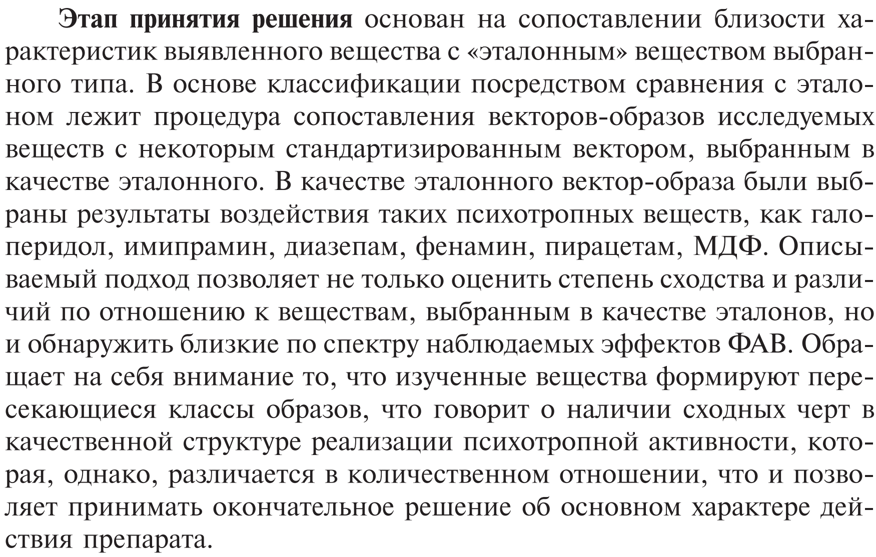
Для иллюстрации принятия решения в условиях *определенности* вернемся к нашим данным по моделированию и алгоритмизации результатов оценки психотропных препаратов и ФАВ. *Подход Байеса* позволяет выявить наличие отдельных характеристик психотропного действия как у известных, так и у новых препаратов. Идеально «чистых» нейролептиков или анксиолитиков не существует. Мы говорим лишь об антидепрессанте и нейролептике с психостимулирующим или депримирующим действием, которые при этом имеют анальгезирующие или активирующие свойства. Возможно ли это выявить и количественно оценить? Мы считаем это вполне реальным.




Систему автоматизированного скрининга можно рассматривать как совокупность взаимосвязанных и взаимозависимых подсистем, каждая из которых предназначена для выполнения определенной функции. В формальном отношении процедура скрининга распадается на ряд дискретных этапов, связанных с выполнением самостоятельных задач.

Первичная классификация ФАВ, в которую входит определение спектра фармакологических реакций, соотнесение их с моделями реакций эталонных веществ и установление в рамках выбранной классификации типа активности ФАВ.

Количественная оценка фармакологических эффектов проводится в рамках выбранных моделей анализа фармакологической активности. В нашем случае – это использование методов фарм-ЭЭГ, включающих преобразование ЭЭГ в спектральную форму с помощью быстрого преобразования Фурье, проведение кластерного анализа полученных спектральных характеристик и формирование эталонной базы данных на основе совокупности вероятностей попадания в тот или иной кластер. Сюда же входит анализ изменений содержания белка S-100 под влиянием психотропных средств в различных областях головного мозга, а также совокупность данных ультраструктурных изменений субклеточных структур, которые были подробно перечислены в предшествующих разделах работы.



Этап принятия решения основан на сопоставлении близости характеристик выявленного вещества с «эталонным» веществом выбранного типа. В основе классификации посредством сравнения с эталоном лежит процедура сопоставления векторов-образов исследуемых веществ с некоторым стандартизированным вектором, выбранным в качестве эталонного. В качестве эталонного вектор-образа были выбраны результаты воздействия таких психотропных веществ, как галоперидол, имипрамин, диазепам, фенамин, пирацетам, МДФ. Описываемый подход позволяет не только оценить степень сходства и различий по отношению к веществам, выбранным в качестве эталонов, но и обнаружить близкие по спектру наблюдаемых эффектов ФАВ. Обращает на себя внимание то, что изученные вещества формируют пересекающиеся классы образов, что говорит о наличии сходных черт в качественной структуре реализации психотропной активности, которая, однако, различается в количественном отношении, что и позволяет принимать окончательное решение об основном характере действия препарата.




Рассмотрим пример, иллюстрирующий возможности и ограничения классификации, которая осуществляется путем сравнения с эталоном и строится на основании эмпирических данных. Предположим, что в ходе скрининга наряду с другими задачами проводится поиск «идеального» нейролептика. Так, например, он должен вызывать значительное увеличение спектральной мощности фарм-ЭЭГ в диапазоне 4–7 Гц, ему должно сопутствовать выраженное увеличение мощности в диапазоне 8–12 Гц и умеренное увеличение в диапазоне 1–3 Гц, одновременно с этим должна наблюдаться также выраженная синхронизация ЭЭГ-активности. В то же время для нейролептика характерны ультраструктурные изменения, а именно появление внутриядерных включений и активация ядрышек в таламусе. Изменения пластинчатого комплекса в центральном сером веществе приводят к расширению или изменению формы цистерн и везикул. Нейролептики вызывают также расширение эндоплазматической сети в сенсомоторной коре и гиппокампе. Мы не будем продолжать этот список, поскольку все эти характеристики подробно описаны [5]. Отметим только, что возникает большое число величин, которые создают параметрический «портрет» нейролептика, позволяющий проводить идентификацию и классификацию с помощью разработанного подхода.

Обобщение и обработка данных, полученных перечисленными выше методами, их последующая формализация и обработка с помощью программ, реализующих байесовский подход, позволили провести автоматизированный скрининг ряда психотропных веществ и ус-

тановить их принадлежность к пяти классам психотропных средств. Результаты скрининга приведены на рис. 9.6.

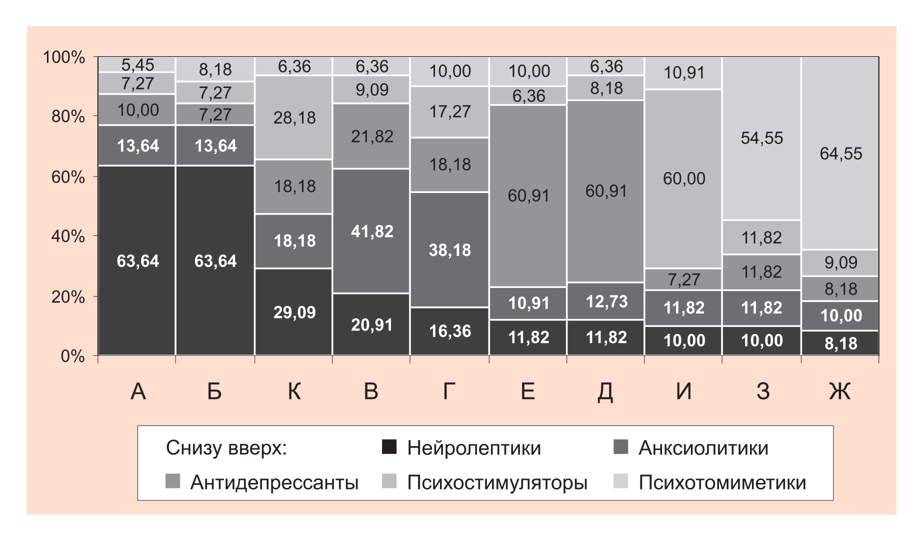
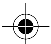
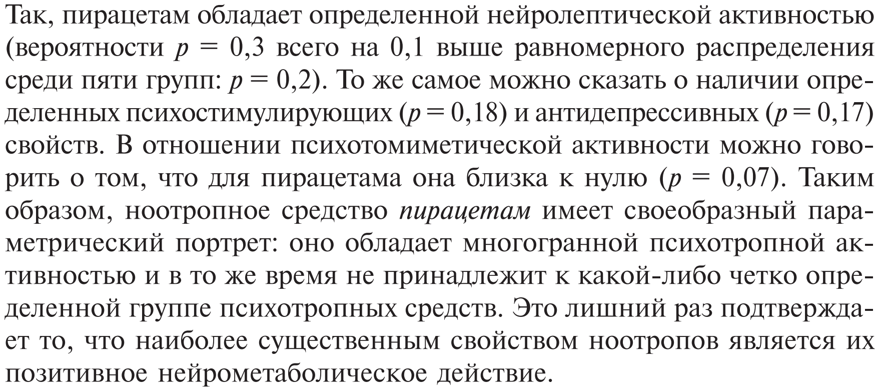


Рис. 9.6. Распределение вероятностей между пятью классами психотропных средств при использовании метода распознавания по данным изменения информативных параметров (содержание белка S-100, ультраструктурные изменения, фарм-ЭЭГ). По оси ординат: Р – вероятность принадлежности к пяти классам соединений; А – галоперидол, Б –психолепт, В – диазепам, Г – уридин, Д – адепрес, Е – имипрамин, Ж – глюпент, З – психогал, И – фенамин, К – пирацетам

Гистограммы показывают распределение вероятностей между 5 эталонными группами психотропных средств. Видно, что использование разработанного нами алгоритма дает высокий уровень вероятности принадлежности галоперидола и вещества *психолепт* ($p = 0{,}67$) к группе нейролептиков, а также вещества адепрес и имипрамина ($p = 0{,}6$) к группе антидепрессантов. Высокую степень распознавания демонстрирует алгоритм и в отношении психотомиметиков (рис. 9.6). Транквилизаторы демонстрируют меньшую степень избирательности метода при распознавании их принадлежности к определенному классу психотропных средств. Однако величина вероятности ($p = 0{,}4$) все еще достаточно высока, чтобы с уверенностью отнести их к этому классу. В этом отношении следует особо остановиться на анализе психотропных свойств пирацетама. Проведенный анализ на первом этапе показывает его несомненную принадлежность к психотропным средствам ($p = 0{,}78$), однако, характер распределения вероятностей принадлежности к пяти эталонным классам психотропных средств (рис. 9.6) не дает возможности такого отнесения к какой-либо конкретной группе.



Так, пирацетам обладает определенной нейролептической активностью (вероятности p = 0,3 всего на 0,1 выше равномерного распределения среди пяти групп: p = 0,2). То же самое можно сказать о наличии определенных психостимулирующих (p = 0,18) и антидепрессивных (p = 0,17) свойств. В отношении психотомиметической активности можно говорить о том, что для пирацетама она близка к нулю (p = 0,07). Таким образом, ноотропное средство *пирацетам* имеет своеобразный параметрический портрет: оно обладает многогранной психотропной активностью и в то же время не принадлежит к какой-либо четко определенной группе психотропных средств. Это лишний раз подтверждает то, что наиболее существенным свойством ноотропов является их позитивное нейрометаболическое действие.

Итак, несмотря на определенный произвол в формировании эталонного вектора в представленном примере, можно утверждать, что используемый подход позволяет проводить распознавание в рамках классов, принятых в современной фармакологии, исходя из принципа общности свойств. Формализация общности свойств психотропных препаратов в обучающей выборке и использование байесовского метода принятия решения на основе вычисления условных апостериорных вероятностей дают возможность формирования приемлемой классификации, которая может удовлетворять и общепринятым в фармакологии характеристикам. Следует отметить, что при проведении исследований и разработке этой системы мы неоднократно сталкивались с множественностью характеристик действия и одновременного существования ряда эффектов препаратов, характерных для абсолютного большинства известных фармакологических средств.




При скрининге ФАВ и интерпретации полученных результатов было необходимо выделить область информативных параметров, характеризующих групповые и индивидуальные различия психотропных средств. Одним из таких подходов был принцип установления совокупного действия ФАВ на основе распознавания каждой из компонент активности при помощи эмпирической классификации и ее преобразования в форму традиционной, принятой в фармакологии, классификации. Это осуществлялось путем сопоставления экспериментальных данных, полученных в ходе скрининга, с классами, связанными с характерными особенностями фармакологического действия психотропных средств.

Следует особо оговорить наличие у большинства изученных веществ и препаратов весьма сходных типов активностей, что объясняется явлением *психоунитропизма* [5]. Однако индивидуальный вклад ряда информативных параметров в интегральный профиль действия препа-

рата и его развитие на изученных уровнях ЦНС существенно различны, что и позволило использовать предложенный подход для создания системы автоматизированного скрининга психотропных средств. Это хороший прием принятия решения в условиях *определенности*.

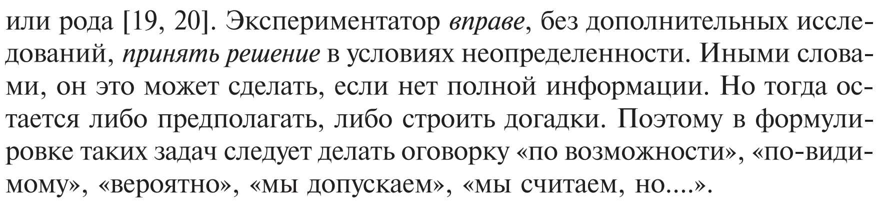
Если же мы находимся в ситуации, в которой результаты экспериментов не дают однозначного ответа, а относятся к одному из множества возможных откликов с разными вероятностями их осуществления, а исход конкретной реализации случаен и непредсказуем, то метод называют *принятием решений в условиях риска*. Аллометрические уравнения для таксометрии при описании вариации метаболической нормы, скажем, у крыс или мышей, зависят от корректности классификационной системы, выбранной для таксации. Если виды были неправильно определены по их принадлежности к роду или семье, или таксация была проведена для видов, которые являются подвидами или родами, то может появиться ошибка [9, 11, 19].




Не часто таксация пересматривается в свете появления новых филогенетических позиций. Это, конечно, принятие решения с большой степенью риска, но не менее важно, что при этом может ставиться под вопрос и качество данных. Например, полупериод жизни метаболитов или ксенобиотиков в плазме трудно измеряем, а условия, при которых это можно измерить, не стандартизированы. Это потенциально вносит ошибку в аллометрические уравнения в соответствии с выбранной методологией, что переводит условия риска в условия *неопределенности*.

В тех случаях, когда результаты экспериментов зависят от непредсказуемых факторов, такая задача называется *принятием решений в условиях неопределенности*. Например, требуется выдать заключение о радиопротекторном действии препарата в условиях комплексного воздействия радиационных, акустических и электромагнитных факторов. Чтобы исключить явления неопределенности, необходимо исследовать протекторные свойства лекарств в отношении каждого из факторов, их попарного воздействия и комплексного влияния. Это требует огромного количества экспериментов и достаточно сложного математического анализа. В случае, например, аллометрической экстраполяции нельзя сбрасывать со счетов возможное неверное толкование регрессии, как результата неправильного представления таксономии.

Это может означать сравнение между видами, при этом некоторые данные могут быть представлены значениями по отдельным особям внутри вида, а по другим – средними значениями в целом по виду. Или может быть дано различное представление данных внутри одной таксономической группы (то есть много особей из одной семьи) и недостаток данных или их полное отсутствие по другому уровню, то есть семьи



или рода [19, 20]. Экспериментатор *вправе*, без дополнительных исследований, *принять решение* в условиях неопределенности. Иными словами, он это может сделать, если нет полной информации. Но тогда остается либо предполагать, либо строить догадки. Поэтому в формулировке таких задач следует делать оговорку «по возможности», «по-видимому», «вероятно», «мы допускаем», «мы считаем, но....».

Многие области исследования животных одного вида могут быть использованы для другого вида. В общем случае лабораторные крысы используются как модель болезней или физиологических процессов человека. Однако животные-модели также используются в ветеринарии, так как, может быть, проще и дешевле изучать принципы физиологии, иммунологии, фармакологии и других аспектов биологии на маленьких грызунах, чем на собаках, овцах, мини-свиньях, или потому, что это более подходяще, дабы не подвергать опасности другие виды. Часто животные, используемые в экспериментах в качестве моделей, отличаются по размерам от тех, которых они моделируют, так как логично и экономично иметь модель меньше оригинала. Во всех этих случаях таксономические параметры и таксономические категории должны составлять основу условий принятия решений. Многие согласны [18, 19, 21], что этическая оценка живых животных-моделей должна зависеть от соблюдения баланса между самочувствием животного и результативностью наилучшего исследования. Этические обоснования должны соответствовать возможностям экстраполяции результатов на другие виды. Экстраполяция зависит от достаточного подобия между видами, возможности исследования модели, переноса результата исследований на оригинал и построения *модели принятия решений.*



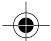

Таким образом, в процессе принятия решений можно выделить несколько этапов:

- ✓ определить основные и альтернативные способы действия, адекватный набор целей и установить таксометрические нормы и пределы искомых результатов;
- ✓ условия неопределенности, связанные с альтернативными решениями, должны быть выражены через распределение вероятностей, желательно численно;
- ✓ использование линейной регрессии, основной оси, параметров снижения от нее, величин градиента в системе аллометрических уравнений как регрессивное описание вариации межвидовых параметров;
- ✓ искомые результаты решения аллометрических уравнений должны быть представлены через ранжирование предпочтений в числовой форме;

✓ рациональный синтез таксометрической информации должен быть осуществлен таким образом, чтобы можно было построить *общую модель принятия решений.*

Многие исследователи и специалисты в области исследования операций и теорий принятия решений руководствуются принципом «разделяй и действуй». Иными словами, необходимо любую анализируемую ситуацию разделить на части, а затем действовать в соответствии с указанными этапами, то есть каждую часть анализировать отдельно. Только после этого можно построить общую модель для принятия решений.

Некоторые, не лишенные чувства юмора специалисты определяют процессы принятия решений и исследования операций как искусство давать плохие ответы на те научные вопросы, которые при других подходах являются еще худшими. Но если говорить серьезно, то решение, принятое в условиях неопределенности, но на основании математических расчетов, будет лучше, чем *взятое наугад* первое попавшееся, которое некоторые исследователи не без юмора называют эвристическим или интуитивным.

Литература

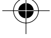
1. *Баренбойм Г.М., Маленков А.Г.* Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. – *М.: Наука, 363 с., 1986.*
2. *Гублер Е.В., Генкин А.А.* Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – *Л.: Медицина, 141 с., 1973.*
3. *Даренская Н.Г., Ушаков И.Б., Иванов И.В., Насонова Т.А., Есауленко И.Э., Попов В.И.* Экстраполяция экспериментальных данных на человека в физиологии и радиологии. – *М.-Воронеж: ИСТОКИ, 232 с., 2004.*
4. *Каркищенко Н.Н., Хайтин М.И.* Анксиолитический эффект калия оротата // *Фармакол. и токсикол., т. 46, № 4, с. 68-71, 1983.*
5. *Каркищенко Н.Н.* Психоунитропизм лекарственных средств. – *М.: Медицина, 208 с., 1993.*
6. *Каркищенко Н.Н.* Основы биомоделирования. – *М.: Изд-во ВПК, 608 с., 2004.*
7. *Каркищенко Н.Н.* Через критерии подобия и аллометрии к валидации и экстраполяции в биомедицине // *Биомедицина, № 6, с. 5-28, 2007.*
8. *Макляков Ю.С.* Системный нейрофармакологический анализ действия лекарственных средств как основа поиска новых психоактивных веществ. *Дисс. ... д-ра мед.наук, М., 1992.*
9. *Нижний С.В., Дмитриев Н.В.* Скрининг физиологически-активных соединений. – *М.: Медицина, 160 с., 1985.*

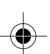
10. *Савчук В.П.* Байесовские методы статистического оценивания. Надежность технических объектов. — *М.: Наука, 328 с., 1989.*
11. *Azen S.P. Katz D., Schumitzky A.* Reduction of dimensionality in Bayesian nonlinear regression with a Pharmacokinetic application // *Metods in Biology. Vol. 59, 47-56, 2002.*
12. *Bennett P.M., Harvey P.H.* Active and resting metabolism in birds: allometry, physiology and ecology // *J. of Zoology 213, 327-363, 1987.*
13. *Berger J.O.* Statistical decision theory and Bayesian analysis. 2nd ed. — *N.Y., Berlin, Heidelberg. 1985.*
14. *Berry D.A.* Decision analysis and Bayesian methods in clinical trials // *Cancer. Treat. Res. Vol. 75, 125-154, 1995.*
15. *Calder W.A.* Size, function and life history. — *Cambridge, Massachusetts, USA: Harvard University Press, 1984.*
16. *Carlin C., Louis Y.* Bayes and empirical Bayes methods for data analysis. — *London, 1996.*
17. *Herrmann W.M., Fichte K., Itil T.M. et al.* Acute efficacy of 20 psychotropic drugs on human EEG power spectrum variables shown by multivariate and univariate statistics // *Pergamon Press, 1979.*
18. House of Lords Select Committee. Select Committee Report on Animals in Scientific Procedures, vol. 1, 81 pp. — *London, UK: The Stationery Office Limited, 2002.*



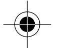

19. *Kirkwood J.K.* Use and Pitfalls of Allometry: A Valuable Tool in Comparisons and Extrapolatios Between Species and in Ethical Considerations Concerning the Use of One Species to Model Another // *ATLA 32, Suppl.1, 209-213, 2004.*
20. *Kleiber M.* The Fire of Life. 2nd ed. — *New York, USA: Robert E.Kreiger, 1975.*
21. *Rivere J.E., Martin-Jiminez T., Sundlof S.F., Craigmill A.L.* Interspecies allometric analisys of the comparative pharmacokinetics of 44 drugs across veterinary and laboratory animal species // *J. of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 20, 453-463, 1997.*
22. *Van der Loos H., Van Essen D.S.* Comparitive physiology // *Annu. Rev. Physiol., v. 23, 501-528, 2007.*
23. *Wilson D.M.* Ultrastructure and cytochemistry of nerve cells // *J. Physiol., v. 239, 571-594, 2006.*

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

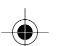
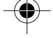










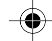











Н.Н. КАРКИЩЕНКО

АЛЬТЕРНАТИВЫ БИОМЕДИЦИНЫ

Том 1 ОСНОВЫ БИОМЕДИЦИНЫ И ФАРМАКОМОДЕЛИРОВАНИЯ

Том 2 КЛАССИКА И АЛЬТЕРНАТИВЫ ФАРМАКОТОКСИКОЛОГИИ

Следующие тома посвящены моделированию больших систем

Животное не может делать ничего бессмысленного.
На это способен только человек.

А.Гельба

❇❇❇

...Все лекарства являются ядами... Только количество
отличает яд от лекарства.

Парацельс

❇❇❇

Две бесконечности – середина.

Блез Паскаль

❇❇❇

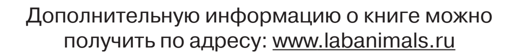
Развитие ... умственного мира представляет собой
в известном смысле преодоление чувства удивления –
непрерывное бегство от «удивительного»,
от «чуда».

Альберт Эйнштейн

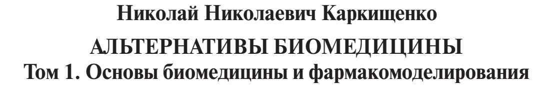
❇❇❇

Интересы человека всегда должны ставиться выше
интересов науки и общества

Хельсинская декларация


Дополнительную информацию о книге можно
получить по адресу: www.labanimals.ru

Available at www.labanimals.ru


Николай Николаевич Каркищенко

АЛЬТЕРНАТИВЫ БИОМЕДИЦИНЫ

Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования

Научное редактирование: доц. Р.Г. Костогрызова
Подготовка рукописи и корректура: доц. Е.Л. Матвеенко
Техническое редактирование и компьютерная верстка: Б.М. Бороденков
Компьютерная графика: С.Н. Суханов, Б.М. Бороденков, С.Ю. Галаш
Дизайн обложки: Р.Ж. Ахтариев

Формат 70 х 90 $^{1}/_{16}$. Бумага офсетная. Гарнитура Ньютон. Печать офсетная.
Усл.-печ. л. 20,0. Тираж 3000 экз. Заказ
Межакадемическое издательство «Вооружение. Политика. Конверсия»
107564, г. Москва, 1-я Мясниковская ул., вл. 3,
тел./факс (495) 169-51-97

Отпечатано в «Универсум Паблишинг»
г. Москва, ул.3-я Мытищинская, д.16,
тел. (495) 980-92-30, факс (495) 980-92-31

